

**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE INFECCIÓN Y COINFECCIÓN POR
VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) Y ASOCIACIÓN CON DIFERENTES
FACTORES DE RIESGO**

SANDRA MILENA CAMARGO PINZÓN

**UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD
UNIDAD DE GENÉTICA**

Bogotá, Agosto de 2011

**UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE INFECCIÓN Y COINFECCIÓN POR
VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) Y ASOCIACIÓN CON DIFERENTES
FACTORES DE RIESGO**

SANDRA MILENA CAMARGO PINZÓN

**Tesis de Grado presentada como requisito parcial para optar al título de MAESTRÍA
en CIENCIAS con énfasis en GENÉTICA HUMANA**

Director: RICARDO SÁNCHEZ PEDRAZA. MD., MSc.

Codirector: MANUEL ALFONSO PATARROYO GUTIÉRREZ. MD., DrSc.

Bogotá, Agosto de 2011

NOTA DE SALVEDAD DE RESPONSABILIDAD INSTITUCIONAL

“La Universidad del Rosario no se hace responsable por los conceptos omitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por regalarme la oportunidad de conocer todas las ventajas del conocimiento.

Agradezco a mis padres y mi hermana por todo el apoyo.

Al doctor Manuel Elkin Patarroyo quien con su constante afán de generar producción intelectual, convierten a la FIDIC en un centro de aprendizaje, abriendo las puertas de sus laboratorios para la formación de investigadores.

A los doctores Ricardo Sánchez y Manuel Alfonso Patarroyo por la dirección de este trabajo y por el apoyo brindado para lograr este objetivo.

A la Asociación de Investigación Solidaria (SADAR), a la Caja Navarra (CAN y la Agencia Española de Cooperación Internacional Para El Desarrollo (AECID) por apoyar y financiar este proyecto.

A la Universidad el Rosario, la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, la Unidad de Genética, y en especial, a los docentes de la Maestría en Ciencias con Énfasis en Genética Humana.

A mis compañeros de Maestría: Liliana Patiño, Daniel León, Diego Ojeda, Taryn Castro y Nidia Peña.

A mis amigos Sara Soto, Marina Muñoz, Daniel Restrepo, Ana Obando, Nora Martínez, Diana Ángel, Karen Orjuela y Andrés Moreno por su incondicional apoyo y ayuda en todo momento.

A los pasantes y tesistas que colaboraron con la obtención de estos resultados: Catherín Marín, Mónica Prías, Dyna Gordillo, Alejandro Botero, Rocío Meneses.

A las mujeres que aceptaron participar en este estudio y permitieron la toma de las muestras, por su buena disposición para la realización del mismo.

DEDICATORIA

A mis padres y a mi hermana.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	3
3. OBJETIVOS	5
3.1 Objetivo General	5
3.2 Objetivos Específicos	5
4. MARCO TEÓRICO	6
4.1 Cáncer de Cuello Uterino	6
4.2 Virus del Papiloma Humano	8
4.2.1 Proteínas E1 y E2 del Virus del Papiloma Humano	10
4.2.2 Proteínas E4 y E5 del Virus del Papiloma Humano	11
4.2.3 Proteínas E6 y E7 del Virus del Papiloma Humano	11
4.2.4 Proteínas L1 y L2 del Virus del Papiloma Humano	13
4.3 Ciclo de Vida del Virus del Papiloma Humano	13
4.4 Clasificación de la familia <i>Papillomaviridae</i>	15
4.4.1 Técnicas de Identificación del Virus del Papiloma Humano	18
4.5 Factores de Riesgo Asociados al Desarrollo de CCU	21
4.5.1 Factores de Riesgo Asociados al Virus del Papiloma Humano	21
4.5.2 Factores de Riesgo Asociados al Huésped	24
5. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	26
6. HIPÓTESIS	27

7. MATERIALES Y MÉTODOS	28
7.1 Tipo de Estudio	28
7.2 Población de Estudio	28
7.3 Criterios de Inclusión	29
7.4 Criterios de Exclusión	29
7.5 Cálculo del Tamaño de Muestra	30
7.6 Metodología	30
7.6.1 Datos Sociodemográficos y Toma de la Muestra	30
7.6.2 Procesamiento de Muestra Cervical	31
7.6.3 Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la Identificación del ADN del Virus de Papiloma Humano (VPH)	32
7.6.4 Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la Tipificación del Virus de Papiloma Humano (VPH)	34
7.6.5 Visualización de los productos de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	36
7.6.5 Análisis Estadístico	39
8. ASPECTOS ÉTICOS, CONSENTIMIENTO Y CONFIDENCIALIDAD	40
9. RESULTADOS	43
10. DISCUSIÓN	53
11. CONCLUSIONES	59
12. RECOMENDACIONES	60
13. BIBLIOGRAFÍA	61

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Pruebas de identificación de ADN de VPH más utilizadas	20
Tabla 2. Prevalencia de VPH en diferentes países	22
Tabla 3. Primers empleados en el estudio	32
Tabla 4. Perfil demográfico de las 1,810 mujeres incluidas en el estudio con amplificación positiva para el gen de <i>β-globina</i> humana	44
Tabla 5. Detección de ADN de VPH empleando dos sets de primers de identificación genérica (GP5+/6+ y MY09/11)	45
Tabla 6. Frecuencias relativas de infección por VPH única y múltiple de acuerdo a las diferentes regiones	46
Tabla 7. Asociaciones de acuerdo a las parejas de tipos de VPH	49
Tabla 8. Factores de riesgo asociados a infección por VPH en cualquier estado (única y múltiple)	51
Tabla 9. Factores de riesgo asociados a coinfección por VPH	52

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Mapa de las tasas de incidencia estimada de cáncer de cuello uterino en el mundo	7
Figura 2. Organización del genoma del virus del papiloma humano tipo 16	9
Figura 3. Organización del ciclo de vida durante la infección productiva	14
Figura 4. Árbol filogenético de 118 tipos del virus del papiloma	17
Figura 5. Amplificación representativa de productos obtenidos por PCR de un fragmento de 268 pb del gen de β -globina.	36
Figura 6. Amplificación representativa de productos obtenidos por PCR de un fragmento de 150 pb de región conservada del gen L1.	37
Figura 7. Amplificación representativa de productos obtenidos por PCR de un fragmento de 450 pb de región conservada del gen L1.	37
Figura 8. Amplificación representativa de productos obtenidos por PCR de un fragmento de 120 pb dirigidos al gen E6, que codifican para las proteínas tempranas del virus.	38
Figura 9. Amplificación representativa de productos obtenidos por PCR de un fragmento de 202 pb dirigidos a los genes E6-E7, que codifican para las proteínas tempranas del virus.	38
Figura 10. Distribución de la prevalencia de los diferentes tipos de VPH entre 1,810 mujeres provenientes de diferentes regiones geográficas	47

INDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Consentimiento informado y cuestionario para mujeres que acepten participar en el estudio	83

TABLA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

FIDIC:	Fundación Instituto de Inmunología de Colombia
CCU:	cáncer de cuello uterino
VPH:	virus del papiloma humano
WHO:	de la sigla en inglés World Health Organization
VPH-AR:	virus del papiloma humano de alto riesgo
VPH-BR:	virus del papiloma humano de bajo riesgo
ADN:	ácido desoxirribonucleico
VIH:	virus de la inmunodeficiencia humana
Pap:	test de papanicolaou
PCR:	de la sigla en inglés: polymerase chain reaction
ASC-US:	células escamosas atípicas de significado indeterminado
L-SIL:	lesión intraepitelial escamosa de bajo grado
H-SIL:	lesión intraepitelial escamosa de alto grado
ORF:	de la sigla en inglés: open reading frames
ARN:	ácido ribonucleico
ARNm:	ácido ribonucleico mensajero
E:	del inglés early
L:	del inglés late
LCR:	de la sigla en inglés: long control region
EGFR:	de la sigla en inglés: epidermal growth factor receptor
pRB:	proteína del retinoblastoma
CDK:	quinasas dependientes de ciclinas
VLP:	de la sigla en inglés: virus-like particles
pH:	Peso del hidrógeno
PVs:	papilomavirus
ELISA:	de la sigla en inglés: enzyme-linked immunosorbent assay

SCCA: de la sigla en inglés: squamous cell carcinoma antigen

CEA: de la sigla en inglés: carcinoembryonic antigen.

HC II: Hybrid Capture II

SFP₁₀-LIPA: de la sigla en inglés: SFP₁₀-based system on a line probe assay

Af: africana

Eu: europea

As: asiática

AA: asiática-americana

NA: norteamericana

AsAi: asiática–amerindia

HLA: de la sigla en inglés: human leukocyte antigen

ORs: de la sigla en inglés: odds ratios

SGSSS: sistema general de seguridad social en salud

PBS: de la sigla en inglés: phosphate buffered saline

BSA: de la sigla en inglés: bovine serum albumin

Tris-HCl: de la sigla en inglés: TRIS hydrochloride

MgCl₂ de la sigla en inglés: magnesium chloride

dNTP: de la sigla en inglés: Deoxyribonucleotide triphosphate

IC: intervalos de confianza

CIOMS: Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas

OMS: Organización Mundial de la Salud

DS: desviación estándar

DIU: dispositivo intrauterino

Valor de p: Valor de probabilidad

GRE: de la sigla en inglés: glucocorticoid-responsive elements